Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 1, Apr. May. 2022, p. 81- 95

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۱ ص.۹۵-۸۱

Homepage: http://ifstrj.um.ac.ir

Full Research Paper

# Evaluation and comparison of ochratoxin a contamination and metallic elements lead and arsenic in commercial instant coffee powders

Sedigheh Yazdanpanah[*1], Shadi Jokar[2], Tahereh Zandilak[1], Maryam Haghighi[1]

Received: 2020.11.13
Accepted: 2021.02.03

**How to cite this article:**
Yazdanpanah, Y., Jokar, S., Zandilak, T., Haghighi, M., (2022). Evaluation and comparison of ochratoxin a contamination and metallic elements lead and arsenic in commercial instant coffee powders. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. *18*(1), 81-95.

**Abstract**

**Introduction:** Coffee is the second most profitable commercial products in the world and in addition to beverage consumption, it is widely used in food industry. Among natural sources, coffee has the highest amount of caffeine. The amount of caffeine in coffee varies depending on the variety of coffee and how it is brewed. Coffee beans contain other compounds such as phenol, magnesium, potassium and fiber. Plants are the most important route for the transfer of heavy metals to the human food chain and the natural cycle. Heavy metals in the body can cause everything from biochemical changes in low levels of contamination to effects on the nervous system and even death in high concentrations. They slow down the reaction with enzymes and even stop the body's essential physiological reactions and have the ability to be stored in the bones, which enter the bloodstream after being saturated in the bone. Heavy metals are important because they are non-degradable in the human body. Contamination with mycotoxins in coffee beans such as ochratoxin produced by Aspergillus and Penicillium occurs under the influence of environmental conditions such as temperature, humidity, water activity, transport conditions, storage until consumption. Therefore, the aim of this study was to investigate and compare the physicochemical properties, fungal contamination and metal elements in 4 samples of instant coffee powder Eagle Lux, Good Day, Nestle and Torabika.

**Materials and Methods:** In 4 samples of instant coffee powder fat, moisture, ash, pH, total sugar, caffeine (using HPLC), ochratoxin A contamination (using HPLC) and lead and arsenic metallic elements (using hydride atomic absorption spectroscopy) were determined. The results were reviewed and compared with national and international standards. All experiments were performed in a completely randomized design. Data analysis was performed using SPSS software. The means were compared using Duncan's test at 5% probability level.

**Results and Discussion:** Comparing the results obtained with the permissible limits of national and international WHO standards, all results are within the permitted standard range (pH 5 to 7, maximum moisture 4%, total sugar maximum 72%, ash 4%, fat in cappuccino powder maximum 30%, Caffeine was based on dry matter up to 2.8%, lead 0.5 mg/ kg, arsenic 1 mg/ kg, ochratoxin 10 ppb). The highest pH value (6.83± 0.05) was determined in Good Day sample. The low pH in the Nestle sample may be due to acid rain and low soil pH in the exporting countries. Minimum amount of ash (2.38± 0.05%), moisture (1.41± 0.05%), lead (0.026± 0.000 mg / kg) and arsenic (0.013± 0.000) mg / kg) was observed in Torabika sample. Lead level was similar in Good Day and Torabika samples. The highest amount of caffeine (0.23 ±0.05 wt %) was obtained in Good day sample. Ochratoxin A was not detected in all samples. The lowest amount of total sugar (42.75± 0.05 g /100 g) was observed in Nestle sample. Therefore, it is the most suitable sample for diabetic patients. Torabika sample is recommended as the best sample due to the low amount of lead, arsenic, ash and fat, as well as low moisture content. With increasing moisture and sugar, the possibility of liquid steps forming between particles increases and this causes the degree of cohesion and agglomeration of the powder and the marketability of the powder disappears. Increased mineral consumption causes disease due to inhibition of the mechanism of control of absorption in

1. Department of Food Science and Technology, Kazeroun branch, Islamic Azad University, Kazeroun, Iran.
2. Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Kazeroun branch, Islamic Azad University, Kazeroun, Iran.
(* Corresponding Author's Email: Yazdanpanah2004@gmail.com)
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.67078.0

the small intestine and accumulation in the body. Therefore, as the amount of total ash in coffee increases, its adverse effects on the body intensify. Torabika is the most suitable sample for people with cardiovascular disease due to the lower fat content.

**Keywords:** Food chain, Heavy metals, Instant coffee powder, Ochratoxin A

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۸، شماره ۱، فروردین-اردیبهشت ۱۴۰۱ ص.۹۵-۸۱

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 18, No. 1, Apr. May. 2022, p. 81- 95

مقاله علمی-پژوهشی

# بررسی و مقایسه آلودگی اکراتوکسین A و عناصر فلزی سرب و آرسنیک در پودرهای تجاری قهوه فوری

صدیقه یزدان‌پناه[1*]- شادی جوکار[2]- طاهره زندی لک[1]- مریم حقیقی[1]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۱۵

## چکیده

دانه قهوه دومین فرآورده سودآور تجاری در دنیا می‌باشد و علاوه بر مصرف نوشیدنی در صنایع غذایی کاربرد فراوانی دارد. در تهیه بستنی، شیرینی و شکلات استفاده می‌شود. گیاهان مهمترین مسیر انتقال فلزات سنگین به زنجیره غذایی انسان و چرخه طبیعت محسوب می‌شوند. فلزات سنگین به‌دلیل غیرابل تجزیه بودن، اثرات سوء آنها بر سلامتی موجودات زنده و انسان حائز اهمیت می‌باشد. لذا هدف از این تحقیق، بررسی و مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی، آلودگی اکراتوکسین A، عناصر فلزی سرب و آرسنیک در ۴ نمونه پودر قهوه فوری Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika می‌باشد. در مقایسه نتایج به‌دست آمده با حدود مجاز استانداردهای ملی و بین المللیWHO، همه نتایج در محدوده مجاز استاندارد (pH (محلول ۱۰٪) ۵ تا ۷، رطوبت حداکثر ۴٪ (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک)، قند کل حداکثر ۷۲٪ (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک بدون چربی)، خاکستر ۴٪ (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک بدون چربی)، چربی در پودر کاپوچینو حداکثر ۳۰٪ (گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک)، کافئین بر اساس ماده خشک حداکثر ۲/۸٪ ، سرب ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، آرسنیک ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، اکراتوکسین ppb۱۰) قرار داشتند. بیشترین مقدار pH (۶/۸۳±۰/۰۵) در نمونه Good day و پایین‌ترین مقدار pH در نمونه Nestle تعیین گردید. کمترین مقدار خاکستر (۲/۳۸±۰/۰۵٪)، رطوبت (۱/۴۱±۰/۰۵٪)، سرب (۰/۰۲۶ ± ۰/۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و آرسنیک (۰/۰۱۳± ۰/۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نمونه Torabika مشاهده شد. مقدار سرب در نمونه‌های Good day و Torabika مشابه تعیین گردید. بیشترین مقدار کافئین (۰/۲۳±۰/۰۵ درصد وزنی) در نمونه Good day حاصل شد. در تمام نمونه‌ها میزان اکراتوکسین A منفی بود. کمترین مقدار قند کل (۴۲/۷۵±۰/۰۵ گرم در صد گرم) در نمونه Nestle مشاهده شد. نمونه Torabika به دلیل ناچیز بودن مقدار سرب، آرسنیک، خاکستر و چربی موجود در آن، همچنین پایین بودن مقدار رطوبت به‌عنوان بهترین نمونه پیشنهاد می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** پودر قهوه فوری، زنجیره غذایی، فلزات سنگین، اکراتوکسین A .

## مقدمه

قهوه، در گروه نوشیدنی‌های پرمصرف در سراسر جهان قرار دارد. قهوه و محصولات بر پایه قهوه ترکیباتی هستند، که در سرتاسر جهان در طعم، بافت و شکل‌های متنوعی تولید می‌شود. تاریخچه پیداش قهوه نخستین بار به قرن یازدهم میلادی در اتیوپی و سپس عربستان، ترکیه، استانبول و اروپا برمی‌گردد. درخت قهوه، گیاهی از خانواده *Rubiaceae* می‌باشد. دانه‌های قهوه اندازه‌ای بین ۱۵ تا ۱۸ میلی‌متر دارند، که در آغاز سبز رنگ و پس از رسیدن، رنگ قهوه‌ای گیلاسی به خود می‌گیرد. مرغوبیت دانه‌های قهوه براساس مکان جغرافیایی و گونه گیاه قهوه دسته‌بندی می‌شود. بین گونه‌های مختلف قهوه به ترتیب سه گونه *Coffea Arabica*، *Coffea Aliberica* و *Coffea robusta* از سایر گونه‌ها معروف‌تر می‌باشند و بیشتر کشت می‌شود. در میان منابع طبیعی، قهوه بالاترین میزان کافئین را دارا است. به‌طور متوسط یک فنجان قهوه ۹۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم کافئین دارد. میزان کافئین موجود در قهوه بسته به نوع قهوه و روش دم‌کردن آن متفاوت است و حاوی ترکیبات دیگری از جمله فنول، منیزیم، پتاسیم و فیبر است. کافئین در حدود ۲۰۰ میلی‌گرم می‌تواند سیستم عصبی مرکزی را تحریک، خستگی را کاهش و فعالیت ذهنی را افزایش دهد (Naidu, 2008). در مورد خصوصیات قهوه مطالعاتی انجام شده است. Bhumiratana و همکاران (۲۰۱۱) خصوصیات آرومایی قهوه را بررسی کردند، نتایج نشان داد که آماده‌سازی، میزان برشته کردن و ترکیبات شیمیایی مولد عطر و طعم باعث ایجاد آروما می‌باشند (Bhumiratana *et al*., 2011). Vittayaporn و Wirunthanakrit (۲۰۱۶) بر خصوصیات حسی پودر قهوه فوری ۳ در ۱ مطالعاتی انجام داده‌اند و گزارش کرده‌اند

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.
۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.
(* ایمیل نویسنده مسئول: yazdanpanah2004@gmail.com)
DOI: 10.22067/IFSTRJ.2021.67078.0

که فوری‌بودن آن باعث گسترش استفاده از آن است (Vittayaporn and Wirunthanakrit, 2016). Ghirisan و Miclaus (۲۰۱۷) در تولید قهوه دو روش خشک کردن پاششی و خشک کردن انجمادی در حفظ خصوصیات آنتی‌اکسیدانی را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که خصوصیات آنتی‌اکسیدانی قهوه درخشک‌کردن پاششی به میزان بالاتری حفظ شده است (Ghirisan & Miclaus, 2017).

اکراتوکسین A با فرمول شیمیایی $C_{20}H_{18}O_6NCl$، متیل‌استری است که در حلال‌های آلی قطبی به‌خوبی حل می‌شود. به دنبال رشد برخی قارچها از جنس پنی‌سیلیوم و آسپرژیلوس به‌عنوان متابولیت ثانویه تولید می‌شود. حضور اکراتوکسین A در طیف وسیعی از مواد غذایی شامل غلات، قهوه، میوه‌های خشک، آب انگور و فراورده‌های گوشتی عمل‌آوری و خشک شده گزارش شده است. در مناطق با آب و هوای سرد و مرطوب تولید می‌شود و نگهداری نامناسب منشأ آلودگی است. اکراتوکسین A مهمترین مایکوتوکسینی است که خاصیت تراتوژنیک، نوروتوکسیک، ژنوتوکسیک، ایمنوتوکسیک و نفروتوکسیک دارد. باعث فیبروز کلیه‌ها و تومورهای مجاری ادراری مثانه است (Zinedine *et al*., 2007).

امروزه مناطق وسیعی از دنیا تحت تاثیر آلودگی عناصر سنگین قرار گرفته‌اند که توسعه صنعتی در کشورها را می‌توان یکی از عوامل مهم این فرآیند برشمرد. فلزات سنگین موجود در منابع آب و خاک، یا بصورت طبیعی و یا در اثر آلودگی وارد این منابع می‌شوند. مقادیر بالای فلزات سنگین در آب بر سلامت انسان تاثیر سوء داشته و منجر به غیرقابل مصرف‌شدن آب می‌شود. این فلزات، زمانی که در مقادیر زیاد در خاک وجود داشته باشند به‌وسیله ریشه گیاهان جذب و به اندام‌های هوایی منتقل شده و موجب اختلال در سوخت و ساز گیاهان و کاهش رشد می‌شود. علاوه بر این وجود مقادیر زیاد فلزات سنگین در خاک یک تهدید جدی می‌باشد. معضل اصلی مربوط به فلزات سنگین آن است که این آلاینده‌های غیرآلی بر خلاف آلاینده‌های آلی تجزیه‌پذیر نمی‌باشند. این واقعیت فلزات سنگین را به یکی از خطرناکترین گروه آلاینده‌های زیست محیطی مبدل ساخته است. از میان فلزات سنگین، آرسنیک یک فلز سنگین بسیار خطرناک می‌باشد که به‌وسیله منابع طبیعی و مصنوعی وارد محیط زیست می‌شود این فلز با ایجاد انواع بیماری‌ها، سلامتی انسان را تهدید می‌کند. به‌طوری که در مسمومیت‌های حاد، حتی باعث مرگ افراد می‌شود. تعدادی از مردم جهان به دلیل استفاده از آب آلوده به آرسنیک، از بین رفته‌اند و میلیون‌ها نفر، از بیماری‌های پوستی و انواع مختلف سرطان ناشی از آلودگی رنج می‌برند (Mandal & Suzuki, 2002). سرب یک فلز سنگین است که می‌تواند در صورت بلع یا تنفس برای سلامتی انسان مضر باشد. آثار سرب بر روی بدن به میزان قرار گرفتن در معرض آلودگی بستگی دارد و به‌طور کلی اثرات شناخته شده سرب بر روی بدن از تغییرات بیوشیمیایی در مقادیر کم آلودگی تا تاثیر بر روی سیستم عصبی و حتی مرگ در غلظت‌های بالا می‌باشد. سرب باعث کند کردن واکنش با آنزیم‌ها و حتی متوقف‌کردن واکنش‌های فیزیولوژی ضروری بدن می‌شود و توانایی ذخیره شدن در استخوان‌ها را نیز دارد که پس از اشباع استخوان از سرب، وارد خون می‌شود (Shiomi, 2015). Zazouli و همکاران (۲۰۱۰) میزان غلظت سرب و کادمیوم را در چندین نمونه چای سیاه تجاری مورد مطالعه قرار دادند و مشخص گردید که در صورت افزایش مدت زمان عمل‌آوری چای از ۱۵ دقیقه به ۳۰ دقیقه، غلظت کادمیوم و سرب در نمونه‌ها افزایش چشم‌گیری خواهد داشت. Kulhari و همکاران (۲۰۱۳) بر گیاهان دارویی پرکاربرد جمع‌آوری شده از بخش‌های مختلف شمال غربی هند میزان فلزات سنگین آهن، جیوه، روی، سرب، کادمیوم، کبالت، کروم، منگنز و نیکل را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که باید از کشت گیاهان دارویی و گیاهان پر مصرف در رژیم غذایی به‌منظور اجتناب از خطرات بهداشتی در نزدیکی محیط‌های آلوده به‌ویژه مناطق صنعتی جلوگیری به عمل آورد (Kulhari *et al*., 2013). آلودگی خاک‌ها و گیاهان با فلزات سنگین، یک مشکل جدی در حال گسترش است. لذا هدف از پژوهش حاضر مقایسه و بررسی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و تعیین غلظت فلزات سنگین سرب و آرسنیک در چهار نمونه پودر قهوه فوری تجاری است.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌های مختلف پودر قهوه فوری مورد استفاده در این پژوهش Eagle Lux (Adak East Trading Company، مالزی)، Good day (KAPAL API Company، مالزی)، Nestle (Anglo-Swiss Condens Milk Company، سوئیس) و Torabika (Mayura Company، اندونزی) بود که از فروشگاه مواد غذایی شیراز خریداری شد. دانه قهوه استفاده شده در پودرها مخلوطی از *Coffea Arabica* بود. ترکیبات تشکیل‌دهنده پودرها شامل شکر، طعم‌دهنده (وانیل)، شربت گلوکز، استابیلایزر (E331، E340)، امولسیفایر (E481)، پودر قهوه فوری، شکر پالم، روغن نارگیل هیدروژنه شده، مالتودکسترین، کازئینات‌سدیم، روغن نارگیل تصفیه شده، پودر خامه‌ای کننده لبنی، روغن هیدروژنه پالم، تنظیم‌کننده‌های اسیدیته (E340ii، E452i،E331iii)، آنتی‌کیکینگ (E170i)، پودر خامه‌ای کننده غیرلبنی، نمک، شیرین‌کننده مصنوعی، شیر خشک بدون چربی، پودر آب پنیر و پودر کاکائو بود. مواد شیمیایی شامل اسید نیتریک، اسید هیدروکلریک، کلرید منیزیم، نیترات منیزیم، بوروهیدرید سدیم، یدید پتاسیم، متانول، اکسید منیزیم، دی‌اتیل اتر، پترولیوم اتر، دی‌فنیل دی‌تیوکاربازن، کلروفرم، سیترات آمونیوم سه آبه، سیانور پتاسیم، اسید سولفوریک، اسید پرکلریک، هگزا متافسفات سدیم، الکل اتیلیک، کلرهیدرات هیدرواکسیل آمین، آمونیاک، اسید کلریدریک، شناساگر آبی

بروموتیمل، نیترات سرب خالص آزمایشگاهی و کلرهیدرات هیدرواکسیل‌آمین خالص آزمایشگاهی (Merck، آلمان) جهت انجام آزمون‌ها تهیه شدند.

### اندازه‌گیری خصوصیات فیزیکی شیمیایی

مقدار چربی (بر اساس روش رزگاتلیب)، رطوبت (بر اساس روش آون‌گذاری در دمای ۲ ±۱۰۳ درجه سانتی‌گراد)، خاکستر (بر اساس روش کوره‌گذاری در دمای ۲۵± ۵۲۵ درجه سانتی‌گراد) و مقدار قند کل (بر اساس محلول فهلینگ) بر روی پودر قهوه فوری بر اساس استاندارد ملی ایران، به‌ترتیب به شماره ۱۱۱۳۷و۴۷۱۴ اندازه‌گیری شد (ISIRI, 2012, 11137; 2018, 4714).

### اندازه‌گیری pH

۱۰ گرم نمونه پودر با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق شده و کاملا مخلوط شد. با استفاده از pHمتر (JENWAY، انگلستان) که با محلول تامپون مناسب کالیبره شده بود(بافر ۴ و ۷)، اندازه‌گیری شد (ISIRI, 2012, 11137).

### اندازه‌گیری کافئین

۵۰۰ میلی‌گرم پودر قهوه با ۵ میلی‌لیتر آب جوش مخلوط شد و سپس در دستگاه اولتراسوند (SONOPULS، HD- 4200، آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفت. ۲/۵ میلی‌لیتر از عصاره حاصل را برداشته و برای اندازه‌گیری کافئین با استفاده از محلول‌های کاریز I و II مورد آزمایش قرار داده شد. ۰/۱ میلی‌لیتر محلول‌های کاریز I (۱۰/۶ میلی‌گرم پتاسیم هگزاسیانوفرات سه آبه با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد) و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول‌های کاریز II (۲۱/۹گرم استات روی با ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال مخلوط شد و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید) با ۲/۵ میلی‌لیتر نوشیدنی قهوه مخلوط شد، سپس به حجم ۵۰ میلی‌لیتر با محلول آب: متانول (۱۰:۹۰ حجمی/ حجمی) رسانده شد. ۱۰ دقیقه بی‌حرکت گذاشته شد. فاز رویی براشته شد و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (ALC- 4232، آمریکا) شد. جهت اندازه‌گیری مقدار کافئین، از دستگاه HPLC[1] (Agilent،Infinity lc1220،USA) با استفاده از ستون RP LiChroCART-18 به طول ۲۵ سانتی‌متر استفاده گردید. با کمک فیلترهای سرنگی از نوع PTFE[2] (۰/۴۵ میکرومتر) محلول استاندارد یا عصاره فیلتر شد و به مقدار ۱۰ میکرومتر به ستون کروماتوگرافی تزریق شد. فاز متحرک شامل متانول/ محلول آبی اسید استیک با pH ۲/۸ (۳۵/۶۵ حجمی/ حجمی) و سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

شناسایی ترکیب با آشکارساز آرایه دیود[3] در طول موج ۲۷۲ نانومتر انجام شد. برای تهیه محلول‌های استاندارد ابتدا یک محلول اصلی به غلظت ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد و سپس غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از محلول اصلی با رقیق‌سازی به‌دست آمد. با رسم غلظت‌های استاندارد در مقابل سطح زیر نمودار منحنی کالیبراسیون تهیه شد. مقدار کافئین ($W_x$) بر حسب ماده خشک به‌صورت عددی معادل گرم در ۱۰۰ گرم قهوه محاسبه شد (Moeenfard *et al*., 2021).

### اندازه‌گیری سرب

برای اندازه‌گیری سرب، ۱۰ گرم نمونه در ۲۰میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک غلیظ به آن افزوده شد و مدت ۵ دقیقه بهم‌زده شد، دو بخش حاصل شد. همراه این عمل به نمونه پایینی حاوی ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک افزوده شد. ۵ تا ۶ قطره شناساگر آبی بروموتیمول به هر یک از دو نمونه آزمون و بخش پایینی افزوده شد و روی هر یک به‌وسیله یک بورت محلول آمونیاک قطره قطره اضافه شد تا به رنگ آبی درآید. سپس به هر یک ۱/۵ میلی‌لیتر آمونیاک و پس از آن ۱ میلی‌لیتر سیترات آمونیوم و ۱ میلی‌لیتر محلول سیانور پتاسیم اضافه گردید. محتویات آن به‌وسیله تکان دادن مخلوط گردید و به آن بین ۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر محلول ویتیزن۲۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور افزایشی اضافه شد، تا لایه کلروفرمی زیرین از رنگ قرمز آجری دیتیزنات سرب به رنگ سبز، آبی یا ارغوانی در آید. به نمونه پایینی نیز محلول دیتیزن اضافه و مخلوط گردید. محلول کلروفرمی به قیف جداکننده دیگری منتقل و با ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک یک درصد مخلوط گردید و به شدت همزده شد به نحوی که سرب به لایه آبی منتقل شد. در این صورت لایه کلروفرمی به رنگ سبز خالص درآمد. لایه کلروفرمی سبز شده دور ریخته شد. روی نمونه پایینی نیز عملیات فوق انجام گردید. روی هر یک از محلول‌های اسید نیتریکی به‌دست آمده از نمونه و نمونه پایینی ۰/۲ میلی‌لیتر محلول سیترات آمونیم، ۵ قطره آمونیاک، ۰/۲ میلی‌لیتر محلول سیانور پتاسیم اضافه و مخلوط گردید و به قدر کافی محلول ۲۰ میلی‌گرم در لیتر دیتیزن به قیف حاوی نمونه اضافه گردید تا پس از بهم‌زدن رنگ قرمز آجری به رنگ سبز، آبی یا ارغوانی در آمد و محلول دیتیزن به قیف نمونه پایینی نیز اضافه گردید و بهم زده شد. محتویات قیف‌ها به لوله‌های نسلر منتقل گردید و به آهستگی در لوله حاوی نمونه پایینی محلول رقیق استاندارد سرب ضمن بهم زدن پیوسته اضافه گردید تا رنگ آن با رنگ لوله نسلر حاوی نمونه یکسان شود و محلول رقیق استاندارد سرب اضافه شده برای هم‌رنگ شدن لوله پایینی با لوله نمونه

1 High Performance Liquid Chromatography
2 Polytetrafluoroethylene
3 Diod Array Detector

مقدار حجم از روی بورت خوانده شد و یادداشت گردید. مقدار سرب به میلی‌گرم در یک کیلوگرم نمونه طبق رابطه زیر محاسبه می‌شود (Shah *et al.*, 2013).

(۱) میلی‌گرم سرب در یک کیلوگرم نمونه = 10 V/ M

که در آن :

V = تعداد میلی‌لیتر محلول رقیق استاندارد سرب که برای هم‌رنگ شدن با محلول نمونه مصرف شده است.

M = جرم اولیه نمونه بر حسب گرم

### اندازه‌گیری آرسنیک

اندازه‌گیری آرسنیک با استفاده از طیف سنجی جذب اتمی هیدرید[1] مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس این واقعیت که در دمای محیط، عناصری مانند آرسنیک و سلنیم با هیدروژن فعال تولید شده واکنش می‌دهند تا ترکیبات گازی هیدروژن تولید کنند، روش تولید هیدرید به‌عنوان تکنیکی برای اندازه‌گیری عناصری مانند آرسنیک و سلنیم با حساسیت بالا شناخته شده است. روش معمول مورد استفاده برای اسپکتروسکوپی جذب اتمی شامل ارسال گاز هیدروژن ترکیبی $AsH_3$ تولید شده در ژنراتور بخار هیدرید به یک سلول جذب کوارتز و اتمیزه کردن عناصر توسط تجزیه حرارتی است. سپس برای گرم کردن سلول جذبی از شعله یا گرمایش الکتریکی (کوره) استفاده می‌شود. گرمایش الکتریکی نیاز به تدارک گاز لازم برای روش شعله (استیلن و هوا) را نداشته و حساسیت حدود ۱/۵ برابر بیشتر نسبت به روش شعله برای اندازه‌گیری آرسنیک ارائه می‌دهد (Seenivasan *et al.*, 2008).

### اندازه‌گیری میزان آکراتوکسین

اکراتوکسین از ۵ گرم پودر قهوه با ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول ۱٪ سدیم هیدروژن کربنات (NaHCO3) در pH ۷/۴ استخراج شد. محلول در مخلوطکنی که لرزش مداری (OS-20، Boeco،Staufen، Germany) داشت به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه مخلوط شد. سپس محلول با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ (NJ، USA) فیلتر شد و با ۲۰ میلی‌لیتر PBS مخلوط شد. محلول حاصل با ۱۰ میلی‌لیتر PBS مخلوط شد و بر روی ستون ایمونوافینیتی (که دارای آنتی بادی‌های اختصاصی است و با عبور عصاره رقیق شده از ستون، آنتی‌ژن موجود در عصاره به آنتی بادی‌های اختصاصی درون ستون متصل شد) بارگذاری شد. سپس ستون ایمونوافینیتی با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر شستشو داده شد. در مرحله بعد اکراتوکسین با ۴ میلی‌لیتر متانول شستشو داده شد و در برابر جریانی از نیتروژن در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد ترکیباتی که برای شتشو استفاده شده بود تبخیر شد. قبل از کروماتوگرافی ترکیبات باقی مانده با ۵۰۰ میلی‌لیتر فاز متحرک و با استفاده از فیلتر سرنگی PVDF ۱۳ میلی‌متر (با اندازه منافذ ۰/۴۵میلی‌متر) فیلتر شد. محلول حاصل به دستگاه HPLC تزریق شد. تزریق، جداسازی، تشخیص و تعیین مقدار با روش فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ( فاز متحرک: ۵۱ قسمت حجمی از آب با ۴۸ قسمت حجمی از استونیتریل و یک قسمت حجمی از اسید استیک گلاسیال مخلوط کرده و با استفاده از صافی با منافذ ۰/۲ میکرومتر، صاف شد. سرعت جریان فاز متحرک در ستون ۱ میلی‌لیتر در دقیقه) با استفاده از ستون (Monolitic RPC18) فاز معکوس (با ابعاد ۱۵۰× ۴/۶ میلی‌متر و اندازه ذرات ۵ میکرومتر)، مشتق‌ساز و دتکتور فلوئورسانس (شناسایی فلورسانس با طول موج تحریک در ۳۳۳ نانومتر و طول موج نشر در ۴۶۰ نانومتر) و مقایسه سطح زیر منحنی استاندارد با نمونه مجهول و ضریب رقت میزان آلودگی برحسب نانوگرم بر گرم محاسبه شد. جهت تهیه منحنی‌های استاندارد کالیبراسیون، قبل از تزریق نمونه ابتدا غلظت‌های معین از محلول‌های استاندارد اکراتوکسین A مورد اندازه‌گیری به دستگاه HPLC (Waters، ALIANS 2695، USA) تزریق شد (Galarce-Bustos *et al.*, 2014).

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز با کمک آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد صورت گرفت.

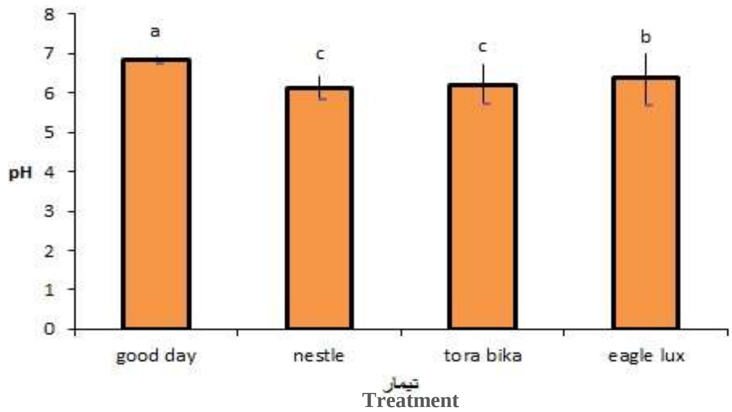
## نتایج و بحث

### pH

در اندازه‌گیری pH (شکل ۱) بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد، ولی بین نمونه‌های Nestle و Torabika اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p<0.05$). بیشترین مقدار pH (۶/۸۳ ±۰/۱۰) در نمونه Good day و کمترین مقدار (۶/۱۲ ±۰/۳۰) در نمونه Nestle مشاهده شد. بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷ میزان pH (محلول ۱۰ درصد) در محدوده بین (۷ –۵) برای پودر ۳ در ۱، ۲ در ۱ و کاپوچینو گزارش شده است. کلیه نمونه‌ها از لحاظ pH در محدوده قابل قبول قرار داشته‌اند. پایین بودن pH در نمونه Nestle می‌تواند ناشی از بارش باران‌های اسیدی و pH پایین خاک در کشورهای تولید کننده باشد (Hollier & Rutherglen, 2005). pH و اسیدیته قابل تیتر دو پارامتری هستند که کیفیت نوشیدنی‌های قهوه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. روش خشک کردن مقدار pH را تحت تاثیر قرار می‌دهد. دانه‌های قهوه حاوی اسید سیتریک، اسید مالیک، اسید کوئینیک، اسید

1 HG-AAS: Hydride Generation Atomic Absorption

کلروژنیک می‌باشند که مقدار pH را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اسید استیک در طی تخمیر دانه قهوه تولید می‌شود و باعث کاهش pH است. مقدار pH قهوه به‌واسطه منطقه جغرافیایی، میزان رسیدن، فرآیند پس از برداشت، نوع فرایند برشته‌کردن و دم‌کردن متغیر است (Salamanca *et al*., 2017). Leroy و همکاران (۲۰۰۶) مقدار pH در دانه‌های قهوه *C. canephora* از ۵/۲۷ تا ۶/۱۳ گزارش کردند (Leroy *et al*., 2006). مقادیر گزارش شده و مشابه با پژوهش حاضر است. قهوه عربی دارای pH درمحدوده ۴/۸۵ تا ۵/۱۵ است در حالی که قهوه ربوستا دارای pH درمحدوده ۵/۲۵ تا ۵/۴۰ است که به علت حضور مقادیر متفاوت از اسیدهای آلی نامبره شده است (Vitzthum, 1975).

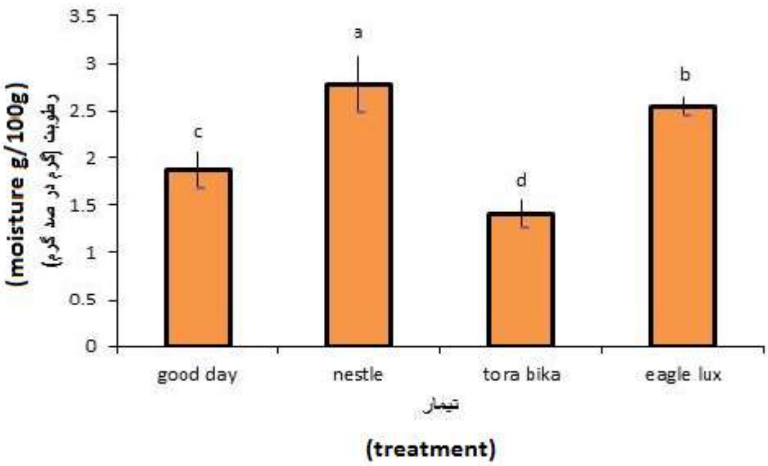



**شکل ۱- نتایج pH در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

**Fig. 1. PH results in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.




**شکل ۲- نتایج رطوبت در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

**Fig. 2. Moisture results in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.

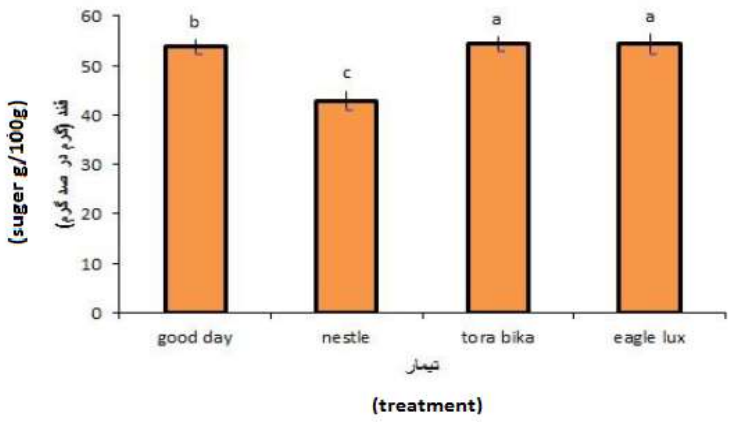
### رطوبت

بین تمامی نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در مقدار رطوبت وجود دارد (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار رطوبت (۰/۳۰± ۲/۷۸ گرم در صد گرم) در نمونه Nestle و کمترین مقدار (۰/۱۵± ۱/۴۱ گرم در صد گرم) در نمونه Torabika مشاهده شد (شکل ۲)، که ممکن است علت آن تنوع در نحوه بسته‌بندی، شرایط و زمان نگهداری باشد (اندازه‌گیری رطوبت بر روی نمونه‌های انجام شد زیرا بر روی بسته‌بندی مقدار رطوبت درج نشده بود). مقدار رطوبت در تمامی نمونه‌ها در محدوده استاندارد قرار

دارد. بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷ میزان رطوبت در پودر ۳ در ۱ ، پودر ۲ در ۱ و کاپوچینو با بیشینه ۴ گرم در ۱۰۰ گرم گزارش شده است (ISIRI, 2012, 11137). جهت حفظ ماندگاری محصول و جلوگیری از افت کیفیت باید رطوبت در سطح بسیار پائینی حفظ شود. به دلیل جاذب‌الرطوبه بودن، پودرهای غذایی در برابر رطوبت نسبی محیط از حساسیت‌های متفاوتی برخوردار هستند. به‌عنوان مثال رطوبت نسبی بحرانی برای پودر چای، آب پنیر، شیر پس‌چرخ و آرد، به‌ترتیب ۳۳، ۳۳، ۴۴ و ۶۶ درصد می‌باشد که در این رطوبت، فرآیند کلوخه‌ای شدن آنها صورت می گیرد (Teunou *et al.*, 1999). Shittu و Lawal (۲۰۰۷) بر روی ۱۰ نمونه از پودرهای تجاری کاکائو مطالعه کردند و میزان رطوبت نمونه‌ها را بین ۰/۸ تا ۳/۶ گزارش کردند. Oberoi و Sogi (۲۰۱۵) در پژوهش خود گزارش کردند که در تولید قهوه فوری با استفاده از مالتودکسترین به مقدار ۳ تا ۱۰ درصد، با افزایش غلظت مالتودکسترین، محصولی با رطوبت کمتر می‌توان تولید کرد. Wirunthanakrit و Vittayaporn (۲۰۱۸) مقدار رطوبت در پودر قهوه‌های فوری به‌دست آمده از دانه‌های قهوه خام عربی اینکپسوله شده با مالتودکسترین ۱۰ و ۱۵ درصد را به‌ترتیب ۴/۰۸±۰/۰۴ و ۳/۶۹±۰/۰۳ گزارش کردند. نتایج گزارش شده مشابه پژوهش حاضر است.

### قند کل

بیشترین مقدار قند (۲/۱۶± ۵۴/۳۲ گرم در صد گرم) در نمونه Eagle lux و کمترین مقدار (۱/۹۵± ۴۲/۷۵ گرم در صد گرم) در نمونه Nestle مشاهده شد (شکل ۳). بین نمونه‌های Eagle lux و Torabika اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p<۰/۰۵). کلیه نمونه‌ها از لحاظ مقدار قند بر طبق استاندارد ملی ایران در محدوده قابل قبول قرار داشته اند. طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷، مقدار قند کل (گرم در ۱۰۰ گرم) برای پودر ۳ در ۱، پودر ۲ در ۱ و کاپوچینو به‌ترتیب با بیشینه ۷۲، ۴۰ و ۷۲ گزارش شده است (ISIRI, 2012, 11137). از آنجایی که مصرف کمتر مواد قندی برای بیماران دیابتی، کنترل وزن و جلوگیری از خرابی دندان همواره توصیه می‌شود. بنابراین نمونه Nestle مناسب‌ترین نمونه برای بیماران دیابتی است. قندهای سوکروز، گلوکز، فروکتوز، مانوز، آرابینوز و گالاکتوز در واریته‌های گوناگون دانه‌های قهوه وجود دارد (Belitz *et al.*, 2009). قندهای آمورف باعث چسبندگی موجود بین ذرات پودر (به‌دلیل قند بالا) تحت‌تأثیر گذار شیشه‌ای می‌شوند. در طی حل کردن پودر در آب، مولکول‌های آب باعث مرطوب شدن سطح ذرات پودر می‌شوند که نتیجه امکان نفوذ سریع‌تر آب به‌دلیل کاهش اتصال ذاتی داخلی ذرات است. افزایش مقدار قند پودر باعث افزایش رطوبت (افزایش پل‌های مایع بین ذرات جامد) افزایش کلوخه‌ای شدن و افزایش زمان خیس شدن پـودر می‌شود (Fitzpatrick, 2013). Shittu و Lawal (۲۰۰۷) گزارش کردند که با اضـافه نمودن ۳۵ درصد شکر و ۰/۵ درصد استویا در فرمولاسـیون، پخش‌شوندگی و بازسازی پودر فوری کاکائو به‌طور معنی‌داری بهبود یافته بود.




**شکل ۳- نتایج قند کل در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

**Fig. 3. Total sugar results in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.

### خاکستر

بیشترین مقدار خاکستر (۰/۲۰± ۳/۱۲ گرم در صد گرم) در نمونه Nestle و کمترین مقدار (۰/۲۰± ۲/۳۸ گرم در صد گرم) در نمونه Torabika مشاهده شد (شکل ۴). بین تمامی نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در مقدار خاکستر وجود دارد (p<۰/۰۵). کلیه نمونه‌ها از لحاظ مقدار خاکستر بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷ میزان خاکستر

۴ گرم در ۱۰۰ گرم (بیشینه) برای پودر ۳ در ۱، پودر ۲در ۱ و کاپوچینو گزارش شده است (ISIRI, 2012, 11137). افزایش مصرف مواد معدنی به دلیل جلوگیری از مکانیسم کنترل جذب در روده کوچک و تجمع در بدن موجب بروز بیماری می‌گردد. بنابراین هرچه میزان خاکستر کل موجود در قهوه افزایش یابد اثرات نامطلوب آن بر روی بدن تشدید می‌گردد (Vauzour *et al*., 2010). خاکستر در دانه‌های قهوه خام ربوستا و عربی به مقدار ۳ تا ۵/۴ درصد گزارش شده است (Belitz *et al*., 2009). Wirunthanakrit و Vittayaporn (۲۰۱۸) مقدار خاکستر در پودر قهوه های فوری بدست آمده از دانه های قهوه خام عربی اینکپسوله شده با مالتودکسترین ۱۰ و ۱۵ درصد به ترتیب ۰/۰۱ ±۲/۳۸ و۰/۰۱ ± ۳/۶ گزارش کردند (Wirunthanakrit, 2018 and Vittayaporn). نتیجه مشابهی در پژوهش حاضر گزارش شده است.




**شکل ٤- نتایج خاکستر در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

**Fig. 4. Ash results in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.

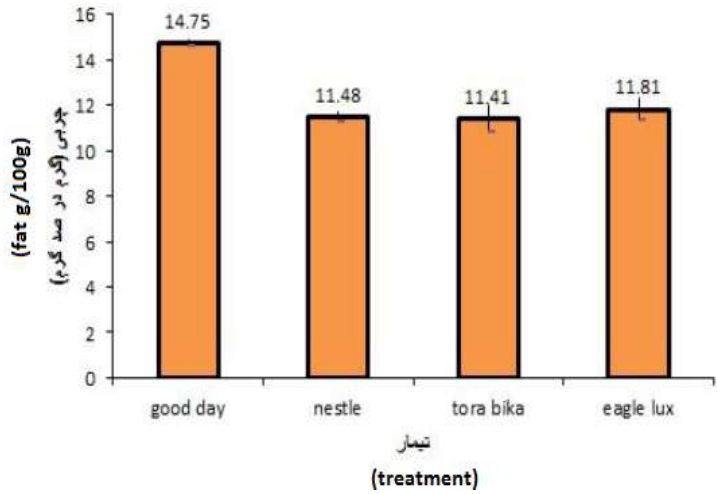
## چربی

بیشترین مقدار چربی (۰/۱۵± ۱۴/۷۵ گرم در صد گرم) در نمونه Good day و کمترین مقدار (۰/۶۰± ۱۱/۴۱ گرم در صد گرم) در نمونه Torabika مشاهده شد (شکل ۵). بین نمونه‌های Nestle و Torabika اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p<0.05$). کلیه نمونه‌ها از لحاظ مقدار چربی در محدوده قابل قبول قرار داشته‌اند. بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۱۳۷ در پودر ۳ در ۱ کم‌چرب و معمولی به‌ترتیب بیشینه ۱۳ گرم در ۱۰۰ گرم و ۳۰ گرم در ۱۰۰ گرم، پودر ۲ در ۱ کم چرب و معمولی به‌ترتیب بیشینه ۱۴ گرم در ۱۰۰ گرم و ۳۰ گرم در ۱۰۰ گرم و پودر کاپوچینو بیشینه ۳۰ گرم در ۱۰۰ گرم گزارش شده است (ISIRI, 2012, 11137). از این رو نمونه Torabika مناسب‌ترین نمونه برای افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد. چربی در دانه های قهوه خام ربوستا و عربی به‌ترتیب به مقدار ۸ تا ۱۲ درصد و ۱۵ تا ۱۸ درصد گزارش شده است ( Belitz *et al*., 2009). نتیجه مشابهی در پژوهش حاضر گزارش شده است. حضـور چربـی و یـا سـطوح ذرات با چربی بالا زمان خیس شدن پودر را افزایش می‌دهد (Schuck *et al*., 2012).

## کافئین

ماده فعال فارماکولوژیکال اصلی در چای و قهوه به‌عنوان یکی از پرطرفدارترین نوشیدنی‌ها، کافئین است. کافئین یک محرک است و سیستم عصبی، قلب و ماهیچه‌های بدن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. میزان کافئین موجود در قهوه بسته به نوع قهوه و روش دم‌کردن آن متفاوت است و کنترل کیفی این‌گونه نوشیدنی‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Crocq, 2003). بیشترین مقدار کافئین (۰/۰۲± ۰/۲۳ درصد وزنی) در نمونه Good day و کمترین مقدار (۰/۰۲± ۰/۲۰ درصد وزنی) در نمونه Eagle lux مشاهده شد (شکل ۶). بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در مقدار کافئین وجود ندارد ($p<0.05$). بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷ در پودر ۳ در ۱ ، ۲ در ۱ و کاپوچینو به‌ترتیب کمینه ۰/۱۶، ۰/۱۶ و ۰/۱۴گرم در ۱۰۰ گرم گزارش شده است (ISIRI, 2012, 11137). کلیه نمونه‌ها از لحاظ مقدار کافئین در محدوده قابل قبول قرار داشته اند. Motora و Beyene (۲۰۱۷) بر روی میزان کافئین در دانه‌های قهوه خام و برشته شده مطالعه کردند و گزارش کردند که با افزایش زمان برشته‌کردن و کاهش میزان رطوبت، مقدار کافئین افزایش می‌یابد (Motora and Beyene, 2017). اگر نسبت مواد جامد به آب در تهیه نوشیدنی قهوه ثابت باشد ولی آسیاب

کردن دانه‌های قهوه در حد زیادی انجام شود و نوشیدنی تا دمای جوش حرارت داده شود میزان کافئین در نوشیدنی افزایش می‌یابد (Bell *et al.*, 1996). در دانه‌های خام قهوه عربی مقدار کافئین ۰/۸ تا ۱/۴ درصد وزنی/ وزنی و در واریته ربوستا ۱/۷ تا ۴ درصد وزنی/ وزنی یافت شده است (Belitz *et al.*, 2009). Wirunthanakrit و Vittayaporn (۲۰۱۸) مقدار کافئین در پودر قهوه‌های فوری به‌دست آمده از دانه‌های قهوه خام عربی اینکپسوله شده با مالتودکسترین ۱۰ و ۱۵ درصد به‌ترتیب ۰/۰۱ ±۱/۰۰ و ۰/۰۱ ±۰/۷۷ گزارش کردند. نتیجه مشابهی در پژوهش حاضر گزارش شده است. Cabrera و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که در حین تخمیر و عملیات فرآوری، ترکیبات فنلی چای سبز و سیاه کاهش و کافئین افزایش می‌یابد (Cabrera *et al.*, 2003).

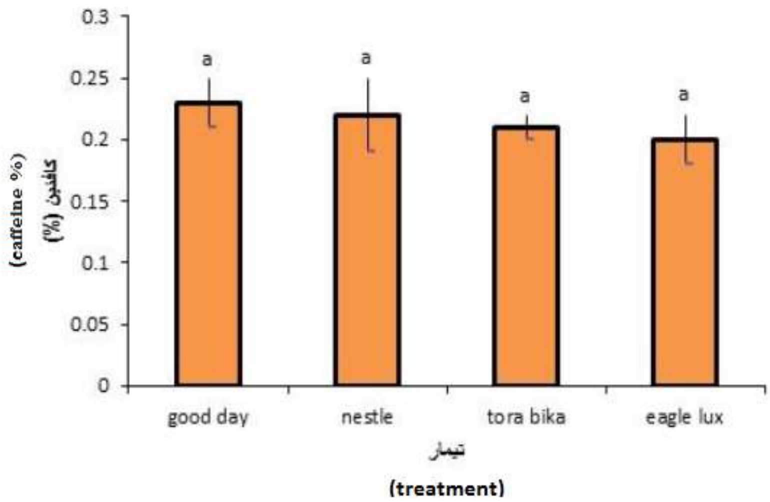



**شکل ۵- نتایج چربی در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

**Fig. 5. Fat results in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.




**شکل ٦- نتایج کافئین در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

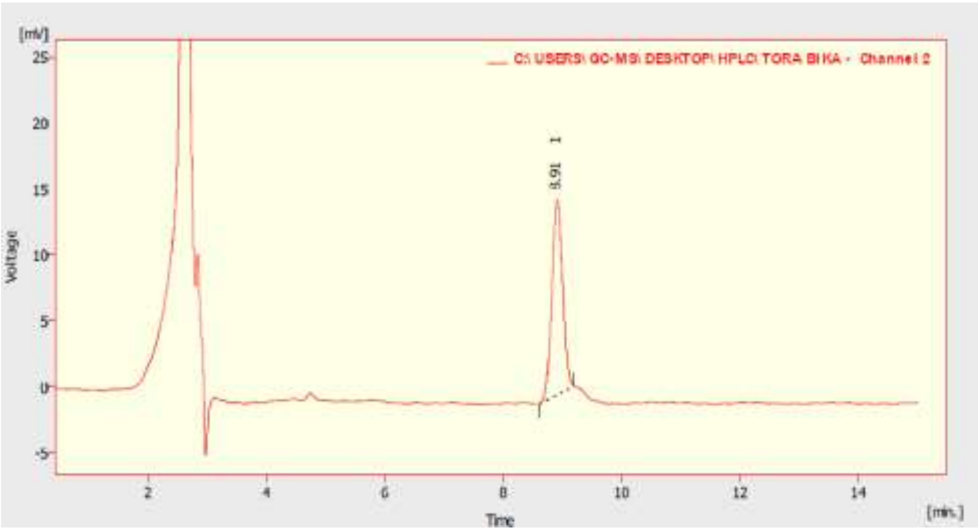
**Fig. 6. Caffeine results in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.

**سرب**

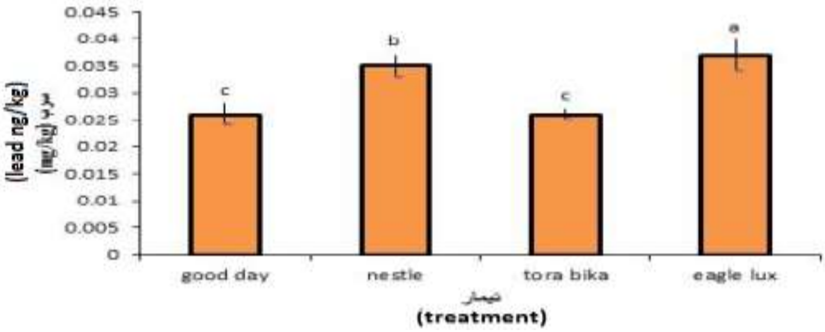
از نظر مقدار سرب بین نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری وجود دارد ولی بین نمونه‌های Good day و Torabika اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار سرب (۰/۰۰۳±۰/۰۳۷ میلی‌گرم بر کیلو گرم) در نمونه Eagle lux و کمترین مقدار (۰/۰۰۱±۰/۰۲۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نمونه‌های Good day و

Torabika مشاهده شد (شکل ۸). کلیه نمونه‌ها از لحاظ مقدار سرب در محدوده قابل قبول قرار داشته‌اند. بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷ بیشینه مقدار مجاز سرب ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (ISIRI, 2012, 11137). طبق توصیه سازمان بهداشت جهانی (WHO) مقدار مجاز سرب ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (WHO, 2007). قرار گرفتن در معرض سرب با تعدادی از عوارض جانبی از جمله نوروپاتی محیطی، کم‌خونی، آسیب کلیوی و اختلال شناختی همراه است. همچنین بین افزایش سطح سرب خون با کاهش تعداد گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هموتوکریت نیز ارتباط وجود دارد (Landsteiner *et al.*,2016). به‌دلیل فرونشست سرب موجود در اتمسفر، استفاده از آفت‌کش‌های، کودهای فسفاته حاوی سرب، لجن فاضلاب و کودهای آلی آلوده به فلزات سنگین مانند سرب، شرایط رویشگاه به‌ویژه اسیدی بودن خاک که باعث افزایش انحلال عناصر می‌شود، مجاورت رویشگاه‌ها با مناطق صنعتی ، تحرک و زیست‌فراهمی این عنصر برای گیاه می‌شود. معمولا گیاهان، بدون تغییر بر عملکرد ظاهری‌شان، توانایی بالایی در جذب و تجمع این فلز را دارا هستند (Senanayake *et al.*, 2013). Nogaim و همکاران (۲۰۱۴) بر روی آلودگی فلزات سنگین در دانه‌های قهوه سبز یمنی مطالعه کردند و مقدار سرب را با میانگین ppm ۲/۰۷ گزارش کردند. مقدار گزارش شده در پژوهش حاضر پایین‌تر از مطالعه Nogaim و همکاران (۲۰۱۴) بود. Lathan و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر تهیه عصاره‌های متفاوت از چای و قهوه را بر کاهش میزان سرب مورد مطالعه قرار دادند و نتایج آنها نشان داد که دم‌کردن (در دمای ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد و داخل یک فلاسک نگهداری شد) و تهیه عصاره آبی داغ (۹۰ تا ۹۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه) از آنها تاثیر زیادی بر کاهش میزان سرب دارد نسبت کاهش در روش‌های دم‌کردن و تهیه عصاره آبی داغ در قهوه فوری ۷۹:۹۵ درصد، چای ۸۸:۹۱ درصد، پودر قهوه (آسیاب شده) ۵۳:۶۲ درصد و دانه قهوه ۵۳:۵۹ درصد بود.




**شکل ۷- نمونه‌ای از کروماتوگرام اندازه‌گیری کافئین در نمونه Torabika**

**Fig. 7. An example of a caffeine measurement chromatogram in a Torabika sample**




**شکل ۸- نتایج میزان سرب در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

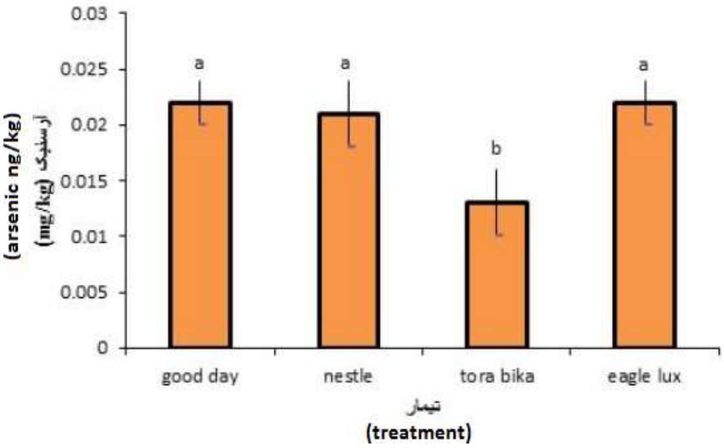
حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

**Fig. 8. Results of lead content in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.

### آرسنیک

بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ، اما مقدار آرسنیک در نمونه Torabika تفاوت معنی‌داری با سه نمونه دیگر دارد (p<۰/۰۵). بیشترین مقدار آرسنیک (۰/۰۰۲± ۰/۰۲۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نمونه Good day و Eagle lux و کمترین مقدار (۰/۰۰۳± ۰/۰۱۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در نمونه Torabika مشاهده شد (شکل ۹). کلیه نمونه‌ها از لحاظ مقدار آرسنیک در محدوده قابل قبول قرار داشته‌اند. بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷ بیشینه مقدار مجاز آرسنیک ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (ISIRI, 2012, 11137). سطح قابل قبول استاندارد سازمان بهداشت جهانی برای حداکثر غلظت آرسنیک در آب آشامیدنی سالم ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر و برای خاک ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است. همچنین توصیه FAO حداکثر مقداری که ناشی از مصرف روزانه آرسنیک غیرآلی است، ۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد. آب‌های زیرزمینی در برخی مناطق به مقدار زیادی جهت آشامیدن، پخت و پز و آبیاری مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از آب‌های سطحی و زیرزمینی آلوده به آرسنیک جهت آبیاری مزارع کشاورزی باعث افزایش غلظت این آلاینده در خاک شده و انتقال آن به بخش‌های مختلف گیاه را افزایش می‌دهد که در نتیجه در برخی موارد، منجر به مختل شدن رشد طبیعی گیاه و یا تمرکز بالای آرسنیک در گیاه شود. آلودگی محیط زیست و مواد غذایی به فلز سمی آرسنیک یکی از مسائل مهمی است که موجب به خطر انداختن بهداشت عمومی و سلامت موجودات زنده می‌شود (WHO, 2007). فلزات سنگینی مانند آرسنیک در ریشه‌های گیاه قهوه ذخیره شده سپس به ساقه‌ها و دانه انتقال داده می‌شود ولی غلظت آرسنیک در دانه‌ها کمتر از سایر بافت‌های گیاه قهوه است. حضور آرسنیک در قهوه برشته شده، آسیاب شده و پودر شده متفاوت است (Matés *et al*., 2010). اندازه دانه قهوه، روش استخراج و نوع تولید محصولات قهوه که باعث کاهش مقدار رطوبت (کاهش آب) بر حضور فلزات سنگین مانند آرسنیک و افزایش غلظت آنها تاثیر دارد. فرآیند تزریق که برای تهیه قهوه استفاده می‌شود تأثیر زیادی بر غلظت فلزات دارد. غلظت کمتر فلز در تزریق به احتمال زیاد به دلیل آزاد شدن فلز به شکل یون ساده در ماتریکس قهوه است (Stelmach *et al*., 2013). Welna و همکاران (۲۰۱۳) میزان آرسنیک را در محصولات قهوه به روش HG-ICP-OES[1] مورد ارزیابی قرار دادند و میانگین غلظت آن را ۰/۱۱۴ تا ۰/۲۴۷ میکروگرم در گرم گزارش کردند. مقدار گزارش شده در پژوهش حاضر پایین‌تر از مطالعه Welna و همکاران (۲۰۱۳) بود.




**شکل ۹- نتایج میزان آرسنیک در نمونه‌های Eagle Lux، Good day، Nestle و Torabika پودر قهوه فوری**

حروف کوچک متفاوت، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ با یکدیگر دارند.

**Fig. 9. Results of arsenic in Eagle Lux, Good day, Nestle and Torabika instant coffee powder samples**

Different lowercase letters have a significant difference at the 5% level.

### اکراتوکسین A

در تمام نمونه‌ها میزان اکراتوکسین A منفی بود. طبق استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۳۷ بیشینه مقدار مجاز اکراتوکسین ppb ۱۰ گزارش شده است (ISIRI, 2012, 11137). آلودگی به مایکوتوکسین‌ها مانند اکراتوکسین که توسط آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم تولید می‌شود، تحت تاثیر شرایط محیطی شامل دما، رطوبت، فعالیت آبی، شرایط جابه‌جایی، انبارداری تا زمان مصرف، میزان حساسیت محصول در زمان کاشت، داشت، برداشت و فرآوری در برابر تهاجم قارچ دارد. روش‌های پس از برداشت مانند خشک کردن تحت شرایط نامطلوب و تماس دانه های قهوه با خاک باعث رشد قارچ و تولید

1 Hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry

اکراتوکسین است (Batista *et al*., 2009). Mounjouenpou و همکاران (۲۰۱۳) آلودگی اکراتوکسین در قهوه خالص عربی، قهوه خالص ربوستا و قهوه میکس را مورد مطالعه قرار دادند و گزارش کردند که میانگین آلودگی ۰/۶ تا ۱۸ میکروگرم در کیلوگرم بود. اگرچه حرارت دادن و برشته کردن باعث دناتوره شدن اکراتوکسین می‌شود ولی بسیاری از قهوه‌های تجاری برشته شده دارای مقداری اکراتوکسین هستند (Mounjouenpou *et al*., 2013). به‌دلیل حضور ترکیبات زیست فعال مهم در قهوه و حفظ کیفیت وایمنی محصول و سلامت مصرف کننده، بیشترین آلودگی در دانه‌های قهوه برشته ۵ میکروگرم در کیلوگرم و در پودرهای قهوه فوری ۱۰ میکروگرم در کیلوگرم در بیانه‌ای توسط کمیته اروپا گزارش شده است (The Commission of the European Communities, EC No. 1881/2006).

## نتیجه‌گیری

بررسی نتایج به‌دست آمده در نمونه‌ها نشان داد که میزان تمامی پارامترهای بررسی شده در محدوده حد مجاز و قابل قبول قرار دارند. بهترین نمونه‌ها به‌لحاظ میزان اندک فلزات سنگین به‌ترتیب Torabika، Good day، Eagle lux و Nestle می‌باشد. نمونه Nestle به دلیل داشتن قند کمتر نسبت به سایر نمونه‌ها، مناسب‌ترین نمونه برای بیماران دیابتی و نمونه Torabika به دلیل داشتن چربی کمتر، مناسب‌ترین نمونه برای افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی عروقی می‌باشد. همچنین نمونه Torabika با وجود رطوبت و خاکستر کمتر به دلیل قابلیت نگهداری بیشتر، از کیفیت بهتری برخوردار می‌باشد.

## منابع


1. Batista, L. R., Chalfoun, S. M., Silva, C. F., Cirillo, M., Varga, E .A., Schwan, R. F. (2009). Ochratoxin A in coffee beans (*Coffea arabica* L.) processed by dry and wet methods. *Food Control*, 20: 784-790. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.10.003
2. Belitz, H. D., Grosch, W., Schieberle, P., Grosch, P. (2009). Coffee, tea, cocoa. In H. D. Schieberle (Eds.), *Food Chemistry* , Leipzig: Springer, 4: 938-951. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7_22
3. Bell, L. N., Wetzel, C. R., Grand, A. N. (1996). Caffeine content in coffee as influenced by grinding and brewing techniques. *Food Research International*, 29(8): 785-789. https://doi.org/10.1016/S0963-9969(97)00002-1
4. Bhumiratana, N., Adhidari, K., Chambers, E. (2011). Evolution of sensory aroma attributes from coffee beans to brewd coffee. *LWT. Food Science and Technology*, 44(10): 2185-2192. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.07.001
5. Cabrera, C., Gimenez, R., Lopez, M. C. (2003). Determination of tea components with antioxidant activity. *Journal of Agricalture and Food Chemistry*, 51: 4427- 4435. https://doi.org/10.1021/jf0300801
6. Crocq, M. A. 2003. Alcohol, nicotine, caffeine, and mental disorders. *Dialogues Clin Neurosci*, 5: 175-185. doi: 10.31887/DCNS.2003.5.2/macrocq
7. Fitzpatrick., J, Bhandari., B, Bansal, N., Zhang Mand Schuck, P (Eds.). (2013). Powder properties in food production systems. In: Handbook of food powders Processes and properties. 1st ed. *Wood head Publishing Limited*. *U. K*, 299-322.
8. Galarce-Bustos, O., Alvarado, M., Vega, M., Aranda, M .(2014). Occurrence of ochratoxin A in roasted and instant coffees in Chilean market. Food Control, 46: 102-107. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.014
9. Ghirisan, A., Miclaus, V. (2017). Comparative study of spray-drying and freeze-drying on the soluble coffee properties. *Studia Universitatis Babes-Bolyai Chemia*, 4: 309-316. DOI:10.24193/subbchem.2017.4.26
10. Hollier. C., M. R., Rutherglen. (2005). Acid soils. Agricultural Notes, AG :1182.
11. Institute of standard and industrial research of Iran. (2012). *Coffee and coffee products- Instand coffee mix powder-Specifications and test methods*. No. 11137.
12. Institute of standard and industrial research of Iran. (2018). *Instant beverage powder- Specifications and test methods*. No. 4714.
13. Jong-Sup, J., Kim, H-T., Jeong, Il-H., Hong, S-R., Oh, M-S., Yoon, M-H., Shim, J-H., Jeong, J. H., El-Aty. A. M. A. (2019). Contents of chlorogenic acids and caffeine in various coffee-related products. *Journal of Advanced Research*, 17: 85-94. https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.01.002
14. Kassi, Z., Greenough, A., Rafferty, G. F. (2009). Effect of caffeine on respiratory muscle strength and lung function in prematurely born, ventilated infants. *European Journal of Pediatrics*. Dec, 168(12): 1491-1495. https://doi.org/10.1007/s00431-009-0961-9
15. Kulhari., A, Sheorayan, A., BajarS, Sarkar, S., Chaudhury, A., Kalia, R. K. (2013). Investigation of heavy metals in frequently utilized medicinal plants collected from environmentally diverse locations of north western India. *Springer Plus*, 2: 676-681. https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-676
16. Landsteiner, A., Yendell, S., Lindgren, P., Olson, L., Williams, A. 2005 -2012- 2016. Adult blood lead levels in minnesota: rates and trends. *Minnesota Medicine*, 99(2): 47-50.

17. Lathan, N., Edwards, S., Thomas, C., Agwaramgbo, L.(2013). Comparative Study of Lead Removal by Extracts of Spinach, Coffee, and Tea. *Journal of Environmental Protection*, 4: 250-257. DOI:10.4236/jep.2013.43029
18. Leroy, T., Ribeyre, F., Bertrand, B., Charmetant, P., Dufour, M., Montagnon, C., Marraccini, P., Pot, D. (2006). Genetics of coffee quality. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18:229-242.
19. Mandal, B.K., Suzuki, K.T. (2002). Arsenic round the world: a review. Talanta, 58(1): 201-235. https://doi.org/10.1016/S0039-9140(02)00268-0
20. Matés, J. M., Safe, J. A., Alonso, F. J. M. (2010). Roles of dioxins and heavy metals in cancer and neurological diseases using ROS-mediated mechanisms. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(9):1328-1341. https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.07.028
21. Moeenfard, M., Khaloo Kermani, P., Jaldan, Sh., Sharif, A. (2021). Caffeine Determination in Various Types of Coffee Brews and Studying the Effect of QuEChERS Method on Its Extraction Compare to Conventional Approach. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(1): 173-186.
22. Motora, K. G., Beyene, T. T. (2017). Determination of Caffeine in Raw and Roasted Coffee Beans of ILU Abba Bora Zone, South West Ethiopia. *Indo American Journal* Of *Pharmaceutical Research*, 7: 463-470.DOI: 10.22067/ifstrj.v17i2.86410
23. Mounjouenpou, P., Durand, N., Guiraud, J-P., Tetmoun, S. A. M., Gueule, D., Guyot, B. (2013). Assessment of exposure to ochratoxin – A (OTA) through ground roasted coffee in two Cameroonian cities: Yaounde and Douala. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* , 3(3): 35-39.
24. Naidu, M. M., Sulochanamma, G., Sampathu, S., Srinivas, P. (2008).Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry*, 107(1): 377-384. DOI: 10.5923/j.food.20130303.03
25. Nogaim, Q. A., Al-Dalali, S., Al-Badany, A., Farh, M. (2014). Determination of Some Heavy Metals in Yemeni Green Coffee. *Journal of Applied Chemistry*, 2 (4):13-18. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.056
26. Oberoi, D. P. S., Soji, D. S. (2015). Effect of drying methods and maltodextrin concentration on pigment content of watermelon juice powder. *Journal of Food Engineering*, 165: 172-178. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.024
27. Salamanca, C. A., Fiol, N., González, C., Saez, M., Villaescusa, I. (2017). Extraction of espresso coffee by using gradient of temperature. Effect on physicochemical and sensorial characteristics of espresso. *Food Chemistry*, 214: 622-630. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.120
28. Schuck, P., Dolivet, A., Jeantet, R. (2012). Analytical methods for food and dairy powders. *Wiley- Blackwell*, Oxford, 145–154.
29. Seenivasan, S., Manikandan, N., Nair, M. (2008). Chromium contamination in black tea and its transfer into tea brew. *Food Chemistry*, 106(3): 1066-1069. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.027
30. Senanayake, M. P., Perera, R., Liyanaarachchi, L. A. Dassanayake, M. P. (2013). Spices as a source of lead exposure: a market-basket survey in Sri Lanka. *Ceylon Medical Journal*, 58(4): 168-169.
31. Shah, A., Niaz, A., Ullah, N., Rehman, A., Akhlaq, M., Zakir, M. et al. (2013).Comparative study of heavy metals in soil and selected medicinal plants. *Journal of Chemistry*, 1-5.
32. Shiomi, N. (2015). An Assessment of the Causes of Lead Pollution and the Efficiency of Bioremediation by Plants and Microorganisms, in Advances in Bioremediation of Waste water and Polluted Soil: Intech.
33. Shittu, T. A, Lawal, M. O. (2007). Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food Chemistry*, 100: 91-98. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.013
34. Stelmach, E., Pohl, P., Szymczycha-Madeja, A. (2013). The suitability of the simplified method of the analysis of coffee infusions on the content of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn and Zn and the study of the effect of preparation conditions on the leach ability of elements into the coffee brew. *Food Chemistry*, 141(3): 1956-1961. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.05.011
35. Teunou, E., Fitzpatrick, J. J., Synnott, E. C. (1999). Characterization of food powder flowability, *Journal of Food Engineering*, 39: 31-37. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(98)00140-X
36. Vauzour, D., Rodriguez-Mateos, A, Corona, G., Oruna-Concha, M. J., Jeremy, P., Spencer, E. (2010). Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients*, 2: 1106-1131. https://doi.org/10.3390/nu2111106
37. Vittayaporn, V., Wirunthanakrit, W. (2016). Preference mapping of commercial instant coffee Mix in Thailand. *SDU Research, Journal Sciences and Technology*, 9(2): 177-191.
38. Vitzthum, O. G. 1975. Chemie und Bearbeitung des Kaffees. Berlin Springer.
39. Welna, M., Szymczycha-Madeja, A., Pohl, P. (2014). Improvement of Determination of Trace Amounts of Arsenic and Selenium in Slim Coffee Products by HG-ICP-OES. Food Analytical Methods, 7: 1016-1023. https://doi.org/10.1007/s12161-013-9707-4
40. WHO. 2007. Cancer Control: Knowledge into Action. Geneva: World Health Organization.

41. Zazouli, M. A, Mohseni Bandpei, A., Maleki, A., Saberian, M., Izanloo, H. (2010). Determination of cadmium and lead contents in black tea and tea liquor from Iran. *Asian Journal of Chemistry*, 22(2): 1387-1393.
42. Zinedine, A., Juna, C., Adrissi, L., Manes, j. (2007). Occurrence of ochratoxin A in bread consumed in Morocco. *Microchemical journal*, 87: 154-158. https://doi.org/10.1016/j.microc.2007.07.004